

# Recherches immunologiques sur la péripneumonie

## VII. Immunisation au moyen d'une souche avianisée de *Mycoplasma mycoides* var. *mycoides* inoculée par la voie du mufler

par A. PROVOST, J.M. VILLEMOT et R. QUEVAL

« Je ne crois pas qu'il soit au monde de maladie plus décevante pour qui l'étudie et la combat ».

G. CURASSON.

Cette opinion d'un homme qui a étudié pendant longtemps la péripneumonie et eut à la combattre est particulièrement lucide.

Que l'on veuille donc bien considérer que les lignes suivantes n'ont qu'une valeur actuelle et seront sans doute périmées dans quelques années ; nous ne les publions que pour faire le point de la question et indiquer une nouvelle méthode d'inoculation.

### I. — BREVE REVUE DES VACCINS ANTIPERIPNEUMONIQUES

Il n'est peut-être pas inutile de commencer cet article par une revue des différents vaccins utilisés contre la péripneumonie, soulignant leurs défauts mais mettant en lumière l'efficacité de certains, et expliquant les raisons qui ont conduit les chercheurs à la réalisation de virus-vaccins avianisés.

#### A. — Les vaccins utilisés.

Les recherches sur la vaccination contre la péripneumonie ont commencé il y a plus d'un siècle avec les travaux de WILLEMS (1) ; elles durent encore. Ce n'est qu'une longue suite de résultats souvent décevants. Une règle générale peut cependant être dégagée : à l'exception des vaccins formolés (vaccin type Curasson-Hanras, Potaroff ou Martin Mendès), les vaccins contre la péripneumonie consistent en

des cultures vivantes plus ou moins virulentes, obtenues *in vivo* ou *in vitro*, de l'agent causal de la maladie, *Mycoplasma mycoides* var. *mycoides*. Mais le dilemme se pose au technicien chargé de leur préparation d'allier un pouvoir immunisant certain à une innocuité satisfaisante pour l'animal inoculé. Ces deux qualités ne sont pas complémentaires ; l'emploi d'un virus trop atténué conduit à une immunité dérisoire, celui d'un vaccin trop virulent à des accidents de vaccination inacceptables et pouvant entraîner la mort.

Le procédé d'inoculation de WILLEMS avec de la « lymphe pulmonaire » virulente accordait une immunité certaine de deux ans au moins aux bovins qui avaient montré des engorgements très nets consécutifs à l'inoculation. Dans l'ensemble cette méthode, malgré des réactions vaccinales très vives, parfois mortelles, donnait satisfaction à ceux qui l'employaient. Pendant six décades (1850-1910) elle fut utilisée en Europe, tandis que les indigènes africains avaient adopté depuis plusieurs siècles un procédé d'immunisation reposant, sans qu'ils s'en doutassent, sur le même principe. Mais, malgré l'immunité satisfaisante obtenue, l'écueil de la méthode résidait dans une certaine mortalité post-vaccinale. Celle-ci fut un peu réduite par l'utilisation des cultures pures du microbe, préconisées par NOCARD, ROUX et DUJARDIN-BEAUMETZ (1899) ; elle restait cependant une préoccupation pour les utilisateurs.

On pouvait penser que l'emploi des cultures atténuées par repiquages successifs en bouillon-sérum, préconisées en 1921 par WALKER (2) et BENNETT (3), et depuis lors largement répandues, apporterait la solution au problème ; les essais réalisés au laboratoire ou dans des conditions d'expérimentation optima sur le terrain affirmaient l'efficacité de ce type de vaccin et la bénignité générale des réactions vaccinales. Il faut pourtant se rendre à l'évidence ; l'emploi des vaccins basés sur les cultures atténuées en bouillon-sérum n'a permis que de contenir péniblement la maladie ; les vaccinations massives (2.500.000 doses produites en 1958 en A.O.F. par exemple) sont demeurées inopérantes, amenant au Soudan les réflexions désabusées de PRIESTLEY (8) : « There is little evidence of a decreasing incidence of the disease... many reports come in of cattle dying (of pleuropneumonia) within a few months of being vaccinated ». (\*).

Les raisons de cet insuccès semblent être de deux ordres :

1) Les unes tiennent au mode de contagion même de la maladie, à son épidémiologie. Nous ne discuterons pas ici cette question, nous contentant de remarquer que, hormis un seul cas, celui du district du Barotseland en Rhodésie du Nord (4), la disparition de la péripneumonie d'un pays n'a *jamais* été le fait de la vaccination mais d'une police sanitaire judicieusement conduite.

Témoin en est l'Australie à l'heure actuelle ; dans ses régions sud, à l'armature sanitaire solide, peuplée d'une population rurale disciplinée, la maladie a disparu pour rester cantonnée au nord, dans le Queensland, dont les conditions climatiques et sociologiques rappellent beaucoup celles des pays sous-développés : la déclaration, l'abattage et la quarantaine y sont illusoire du fait des grands espaces et des grands troupeaux. Illusoire semble également y être l'espoir d'éliminer la péripneumonie par le seul fait de la vaccination.

Mais comme il faut bien faire quelque chose, on vaccine ! Et c'est en ces circonstances que

se justifie pleinement l'adage de J. BASSET (33) : « Les vaccinations sont un mal. Mal parfois nécessaire, il est des vaccins qui s'imposent. »

2) Les autres tiennent aux vaccins de culture en bouillon eux-mêmes :

— absence de règles uniformes pour l'atténuation d'une souche donnée de péripneumonie ; le nombre de repiquages varie suivant les auteurs et suivant les laboratoires, fonction uniquement de la virulence de départ de la souche choisie ;

— difficulté de conservation de la souche vaccinale à un degré d'atténuation voulu, les repiquages successifs abaissant rapidement sa virulence et par là son pouvoir immunigène. La lyophilisation maintenant couramment utilisée donne, malgré l'objection de PRIESTLEY (5), la solution à ce problème ;

— difficulté de conservation du produit vaccinal dans les régions tropicales ; les routes impraticables pendant une partie de l'année, la température pouvant atteindre à l'ombre 42 et même 45°C (cas du Tchad), les moyens de transport sous froid encore précaires ou d'un emploi mal commode restreignent singulièrement son utilisation. Le transport par avion de centre à centre n'a pas résolu le problème de la rapidité d'utilisation sur le terrain et bien souvent (6) on fait des campagnes de vaccination avec un vaccin mort, donc non immunigène dans les conditions de son emploi. Il convient de noter également l'aisance étonnante avec laquelle ce type de vaccin se pollue lors de son conditionnement en flacons (n'oublions pas que c'est un bouillon-sérum, sans adjonction d'antiseptiques). Il nous a été donné de voir distribuer en brousse des lots entiers de vaccin hébergeant de magnifiques cultures mycéliennes ; lorsqu'on songe à la gamme d'antibiotiques que peuvent produire les champignons, on trouve là encore un facteur venant déprécier ce type de produit ;

— durée d'immunité trop courte (quand immunité subséquente il y a...) celle-ci ne dépassant pas six mois dans les meilleures conditions et étant surtout fonction de la « réaction locale » à la vaccination, elle-même corrélative de la virulence de la souche.

Ces divers reproches ont amené les recherches de GRAY et TURNER (7), de PRIESTLEY

(\*) « Il ne semble pas que l'incidence de la maladie diminue... beaucoup de rapports font mention de bétail mourant (de péripneumonie) quelques mois après avoir été vaccinés. »

(8, 9) sur la stabilisation des virus-vaccins par lyophilisation et celles de PRIESTLEY et DAFAALLA (10, 11) sur l'augmentation de leur pouvoir immunigène par des adjuvants.

Ce dernier aspect des recherches est loin d'être résolu si le premier a reçu quelques éclaircissements.

Tenant compte des facteurs énoncés plus haut et désirant obtenir un vaccin à tout prix inoffensif (capable d'être accepté par les éleveurs de l'Est-Africain) et cependant correctement immunigène, SHERIFF et PIERCY entreprirent la culture de *M. Mycoides* dans l'œuf de poule embryonné.

### ***L'atténuation du microbe péripneumonique dans l'œuf embryonné.***

Il semble que ce soient TANG, WEI et EDGAR (12) qui, en Chine vers 1935, adaptèrent les premiers une souche de péripneumonie à la membrane chorio-allantoïdienne de l'œuf de poule embryonné. Leur travail fut suivi en 1941 des observations de SWIFT (13) qui indiqua que le microorganisme de la péripneumonie était capable de cultiver sur des membranes chorio-allantoïdiennes d'œufs de poule tués par le froid. (\*).

A la fin de la seconde guerre mondiale, BALOZET (6) à l'Institut Pasteur de Tunis adapta *M. mycoides* à l'œuf embryonné, mais la souche qu'il obtint possédait encore un pouvoir pathogène certain (15) et ne fut pas diffusée.

SHERIFF et PIERCY (14, 16) en 1952 adaptèrent à l'œuf une souche (souche T<sub>1</sub>), relativement avirulente à l'origine; les premiers passages furent faits par voie chorio-allantoïdienne, puis ultérieurement par voie vitelline.

L'atténuation fut réalisée vers le 30<sup>e</sup> passage. La production du vaccin avianisé fut alors entreprise sur une grande échelle : 2.616.000 doses ont été produites en cinq ans (1952-57) au laboratoire de Kabeta au Kenya. L'immunité engendrée par la vaccination au moyen de la souche T<sub>1</sub> fut jugée excellente (16) et l'opération bien acceptée par les éleveurs. Les animaux vaccinés avaient une immunité quasi totale pendant plus

d'un an (17) et notable après 18 mois. Par ailleurs, les qualités de conservation de ce vaccin, lyophilisé, étaient remarquables (18); deux ans et demi de conservation à -20°C n'altéraient pas ses qualités immunigènes.

Cependant, pour des raisons qui n'ont pas été indiquées, les passages en œuf de la souche T<sub>1</sub> furent poursuivis jusqu'au 180<sup>e</sup>. Le résultat fut que le pouvoir vaccinant décrût rapidement au fur et à mesure des passages : aucune réaction locale ne suivait l'inoculation mais la vaccination devint pratiquement inopérante (19). Ces faits furent reconnus par les protagonistes de la technique eux-mêmes (20) qui estiment que la souche T<sub>1</sub> est maintenant trop atténuée et préconisent l'emploi d'une souche plus virulente, la souche T<sub>3</sub>.

En effet, après avoir atténué la souche T<sub>1</sub>, PIERCY et KNIGHT (21) adaptèrent à l'œuf deux autres souches : T<sub>2</sub> et T<sub>3</sub>.

Les études sur la souche T<sub>2</sub> n'ont pas été poursuivies, mais celles de la souche T<sub>3</sub> ont été menées activement aux laboratoires de Muguga (22) et de Farcha. L'emploi de la souche T<sub>3</sub> ne semble cependant pas donner toute satisfaction en Est-Africain-Britannique (20), où elle cause un certain nombre de réactions locales après inoculation sous-cutanée derrière l'épaule ou à l'extrémité de la queue, réactions jugées indésirables par les éleveurs autochtones !

Deux autres tentatives d'ovoculture de *M. mycoides* ont été tentées au Portugal (24) et en Espagne (38). Aucun résultat probant ne semble s'en être dégagé. Tout récemment enfin, A. MARTIN MENDES (35) réussit l'adaptation de 3 souches en Angola, mais ne parvint à aucune atténuation même après cinquante passages dans l'œuf. La souche T<sub>3</sub> de PIERCY et KNIGHT représenterait à notre connaissance la seule souche avianisée actuellement utilisée.

Bien que les problèmes humains qui se posaient à SHERIFF et PIERCY, en Est-Africain, n'aient aucune raison d'être en Afrique centrale, et comme l'expérimentation que nous avons entreprise avec les « vaccins de culture » conventionnels était loin de nous donner satisfaction (la conservation du produit étant l'un des principaux obstacles), nous avons souscrit à l'offre du docteur PIERCY d'essayer sa souche T<sub>3</sub>; celle-ci fut importée au Tchad en février

(\*) A noter également l'observation de E.O. Longley (Ind. J. Vét. Sci. 1940, 10, 127) qui cultive l'agent de la pleuropneumonie caprine sur membrane chorio-allantoïdienne.

1957. C'est avec elle que nous avons entrepris l'étude de la vaccination par virus avianisé la préférant à la souche Stec-20 que nous avons nous-mêmes atténuée par passage dans l'œuf (\*) (23).

## B. — Voies d'inoculation.

L'inoculation willemiensienne s'effectuait par voie sous-cutanée en « région permise » : tissu conjonctif sous-cutané de l'extrémité caudale (ou plus rarement du chanfrein) ; en ces endroits, le conjonctif est dense et peu abondant, et le processus inflammatoire reste limité. Avec les cultures virulentes de Nocard, avec la souche australienne  $V_3$  qui conserve un pouvoir pathogène notable, avec les cultures atténuées en bouillon-sérum de Walker et de Bennett, la même voie d'introduction restait préconisée. Puis, corrélative de la diminution de virulence des souches vaccinales utilisées, l'inoculation sous-cutanée en arrière de l'épaule fut indiquée, pour l'immunisation du bétail zébu tout au moins.

Avec les vaccins avianisés, le mode d'inoculation varie avec la souche. Les souches  $T_1$  et  $T_2$  peuvent être inoculées par voie sous-cutanée en arrière de l'épaule ou au niveau du cou, tandis que la souche  $T_3$ , nettement plus virulente, nécessite le recours à la vieille méthode de l'inoculation au bout de la queue.

Quoique pratiquée sur une très grande échelle (dans le temps et dans l'espace), la vaccination à la queue ne rencontre guère la faveur des éleveurs africains. En effet, l'intervention qui donnerait une réaction locale nette mais acceptable dans ses suites serait bien accueillie, mais assez souvent des œdèmes importants se manifestent entraînant la mutilation volontaire de l'organe par l'éleveur ou une évolution naturelle vers la nécrose ; il en résulte de toutes manières une perte de la queue, jugée inesthétique par les propriétaires et surtout laissant un animal mutilé, proie des mouches et autres insectes piqueurs. C'est pourquoi la faveur des Africains se tourne vers l'inoculation au chanfrein, rappel de celle qu'ils appliquaient autrefois, ou vers l'inoculation sous-cutanée qui doit être

mise en œuvre avec une souche vaccinale de virulence très moyenne pour éviter des engorgements dramatiques.

En colligeant les résultats de cent années d'expériences, une notion transparaît, notion qui a été soulignée par les auteurs de bonne foi, surtout les anciens : *un bon vaccin donne une lésion locale ; quand celle-ci n'existe pas, l'immunité, si jamais elle s'établit, est faible et éphémère*. Nous en verrons l'application à la souche  $T_3$ .

## II. — RECHERCHES SUR L'IMMUNISATION PAR LA SOUCHE AVIANISÉE $T_3$

### A. Raisons du choix de la souche $T_3$ .

Nous avons choisi la souche  $T_3$  de préférence à une autre souche pour les raisons suivantes :

a) la technique de production est aisée, le prix de revient modique. La cryo-sublimation s'effectuant dans de bonnes conditions et la conservation au congélateur permettant le stockage du vaccin, l'institut producteur peut bloquer sur un mois de l'année la production du vaccin.

Sa conservation à l'état lyophile est remarquable et en fait un produit bien adapté pour un climat tropical.

b) elle conserve un pouvoir pathogène appréciable ; c'est dire qu'elle est apte à créer une lésion locale (qu'un artifice d'inoculation restreint à des proportions minimales), génératrice d'immunité. On voit combien notre position est éloignée de celle des éleveurs du Kenya, qui reprochent précisément à la souche  $T_3$  de créer une lésion locale.

c) son pouvoir immunigène est sûr, résultante de son reliquat de virulence. Des expériences actuellement en cours montrent que cette souche conserve l'intégrité de ses motifs antigéniques, qualité que ne partagent pas toutes les souches atténuées par repiquage en bouillon-sérum. Nous ne prétendons pas par là que le procédé d'« avianisation » soit supérieur à la culture en milieu liquide ; nous ne faisons pour l'instant que profiter du fait sans chercher encore à l'expliquer.

(\*) Entre temps les passages sur œuf ont été poursuivis avec la souche Stec-20 et nous envisageons de reprendre son étude en vue de son utilisation comme souche vaccinale.

## B. Production du vaccin.

### 1. Technique d'ovoculture.

La technique générale ne diffère que peu de celle qu'ont exposée PIERCY et KNIGHT (22) ; elle a été simplement adaptée aux conditions locales.

**Oufs :** On emploie exclusivement des œufs de poules Leghorn blanches ; il est en effet nécessaire de pouvoir mirer aisément les œufs afin de déterminer avec précision le jour où les embryons meurent. Ils sont mis à incuber 7 jours à 39°5 et mirés avant l'emploi.

**Inoculation :** Elle est réalisée par voie intravitelline sous le volume de 0,2 ml par œuf. L'inoculum est constitué par une récolte antérieure non diluée mais simplement centrifugée pour sédimenter les gros débris. On a intérêt, pour une production de vaccin, à réaliser un stock (banque de virus) suffisant pour au moins une année de production, afin de ne pas multiplier inutilement les passages et risquer d'atténuer par trop la souche. Nous en sommes actuellement au 38<sup>e</sup> passage en œuf de la souche depuis son isolement : 33 passages ont été réalisés à Muguga, 5 à Farcha. Le stock est conservé à -20° congelé mais non lyophilisé. La pratique montre en effet que, lorsqu'on part d'un matériel frais ou congelé, le titre du vaccin est supérieur de 1 à 2 puissances logarithmiques à celui que l'on obtiendrait en partant d'une souche lyophilisée.

Les œufs sont remis à incuber à 33°C, température qui favorise au maximum la culture de *M. mycoides* (21).

**Récolte :** Les œufs inoculés sont mirés tous les jours après l'inoculation. Ceux qui sont morts les premier et deuxième jours sont rejetés ; on examine cependant au microscope à contraste de phase une goutte de liquide allantoïdien, ce qui permet de juger du début de la culture et de la pureté bactériologique.

A partir du troisième jour, on récolte les œufs morts ; après désinfection de la coquille par flambage à l'alcool, on recueille tout l'œuf, albumen y compris.

La mortalité se situe entre le 3<sup>e</sup> et le 7<sup>e</sup> jour, le jour moyen (les œufs des 1<sup>er</sup> et 2<sup>e</sup> jours non compris dans le calcul) étant le 5<sup>e</sup>. Certains lots ont un jour moyen de 6. On peut remarquer que ce chiffre correspond à un ren-

dement plus bas et à un titre du vaccin inférieur. Il ne nous a pas été possible de déterminer quels facteurs venaient influencer ces variables.

L'expérience montre qu'il y a intérêt :

— à récolter les œufs dès qu'ils sont morts. En effet, si l'on attend quelques jours et qu'on laisse les œufs morts dans l'étuve, on s'aperçoit qu'il y a très rapidement une digestion des milieux embryonnaires par l'enzyme protéolytique de *M. mycoides*. Cette digestion ne nuit en rien au titre du vaccin à l'état frais, mais est un facteur de mauvaise lyophilisation, par suite de l'appauvrissement en protéines de haut poids moléculaire, protectrices des microorganismes lors du processus de congélation.

— à ne pas récolter d'œufs encore vivants ; le titre en virus de ces œufs est très bas. En effet la prolifération intensive de *M. mycoides* dans l'œuf ne se limite pas à une culture vitelline ; elle se traduit par une véritable septicémie qui entraînera la mort de l'embryon. Ce dernier en présente les stigmates sous formes d'hémorragies superficielles, particulièrement marquées sur la nuque et le long de la colonne vertébrale.

Nous n'avons pu retrouver sur les coupes de différents organes des embryons inoculés (foie, poumon, cerveau) les lésions que CHUTE et COLE (25) ont signalées lors de l'ovoculture d'une souche pathogène de P.P.L.O. de maladie respiratoire chronique des volailles. Par contre les coupes transversales du cordon ombilical des embryons morts le 7<sup>e</sup> jour (donc âgés de 14 jours) montrent une forte prolifération péricapillaire de cellules mononucléaires, rappelant de façon frappante la lésion que l'on rencontre à la fois dans l'œuf inoculé de P.P.L.O. de la maladie respiratoire chronique des volailles (C.R.D.) et dans le poumon péripneumonique, seule lésion considérée d'ailleurs comme pathognomonique d'une infection à *Mycoplasma* (26).

Il est, à propos de la maladie respiratoire chronique des volailles, une question que l'on doit se poser : on sait, depuis que de nombreux auteurs américains l'ont démontré, que cette affection se transmet par l'œuf, les P.P.L.O. aviaires conservant une vie quasi saprophytique durant l'incubation et la genèse de l'em-



bryon, pour ne manifester pleinement leur pouvoir pathogène que sur le poussin ou le poulet. Aurions-nous pu avoir la malchance que nos œufs hébergeassent des P.P.L.O. de ce groupe ? Il semble bien que oui : les œufs dont nous nous sommes servis à une certaine époque, œufs originaires d'un élevage local, contenaient de tels germes ; nous avons pu les mettre en évidence par trois passages aveugles successifs de jaune d'œuf à jaune d'œuf non inoculés, séparés par un intervalle d'une semaine d'incubation. Après le 3<sup>e</sup> passage, un repiquage en bouillon-sérum nous donna une culture de P.P.L.O. qui ne pouvaient avoir d'autre origine que l'œuf.

Quelle incidence ces germes peuvent-ils avoir sur l'ovoculture de *M. mycoides* ? Il est difficile d'y répondre avec précision. Pour notre part, leur présence semble n'avoir que très peu (et même pas du tout) troublé nos cultures ; il est vrai, ainsi que nous l'avons souligné plus haut, que nous nous efforçons de réduire les passages (5 en tout sur une période de 30 mois) ; c'est dire que nous minimisons les chances d'exaltation d'un P.P.L.O. latent de la C.R.D. Peut-être n'en a-t-il pas toujours été de même et, (ceci étant une hypothèse toute gratuite) l'on trouverait là une des causes de la baisse d'activité de la souche T<sub>1</sub> de SHERIFF et PIERCY, laquelle par suite de ses nombreux repiquages, aurait pu largement se contaminer à l'insu de ces chercheurs. Même s'il n'en est pas ainsi, c'est cependant un danger latent lors des cultures des *Mycoplasma* en œuf embryonné.

## 2. Conditionnement et cryo-sublimation du vaccin.

Les inoculations et les récoltes sont faites comme il vient d'être dit. On inocule de 100 à 120 œufs par semaine, en une seule fois, permettant la fabrication de 20 à 30.000 doses hebdomadaires.

Les récoltes des jours 3, 4, 5 et 6 sont stockées au réfrigérateur après broyage soigné au « mixer » et adjonction d'un million d'unités de pénicilline par litre de récolte. SHERIFF et PIERCY (21) ont montré que ce stockage à + 4°C ne pouvait avoir qu'une influence bénéfique sur le titre du vaccin, vraisemblablement par rupture des filaments pseudomycéliens de

*M. mycoides* (visibles dans le liquide allantoïdien) et libération des unités minima reproductrices. Or, c'est précisément le nombre de germes viables qui compte dans la vaccination, ainsi que nous l'exposerons plus loin. Le 7<sup>e</sup> jour, après homogénéisation au mixer, les différentes récoltes journalières sont mélangées et diluées à parties égales avec le mélange suivant, préparé en stock par avance et conservé à 4°C après stérilisation sur filtre Seitz EK :

glucose	108 g
sérum de cheval	100 ml
eau distillée qs	1.000 ml
pénicilline	1.000.000 unités.
	pH = 7

Ce milieu, inspiré du « mist-dessicans » de FRY et GREAVES (28), n'apporte que peu de protéines pour la lyophilisation. Mais il a l'avantage d'être isotonique lors de la dilution du vaccin à l'état frais et de comporter peu de cristalloïdes pouvant former des mélanges eutectiques lors de la congélation précédant la lyophilisation. De plus la grande quantité d'eau du mélange final donne un produit lyophilisé poreux, facile à remettre en suspension.

Le vaccin frais est réparti en flacons de 20 cm<sup>3</sup> à raison de 5,5 ml de produit par flacon, puis congelé à -50° sur les plateaux condenseurs de l'appareil à lyophiliser Stokes grand modèle (\*), les flacons étant couchés pour augmenter la surface d'évaporation lors de la mise sous vide. Après congélation, on procède à un cycle de lyophilisation de 24 heures, à la suite duquel les flacons sont bouchés sous vide à l'aide d'un appareil Bioverre (\*\*) puis stockés à -20° en attendant leur titrage et leur distribution en brousse. Le vaccin se présente comme une fine galette blanc-jaunâtre, d'aspect très poreux.

## 3. Titrage du Vaccin.

### a) *In vitro*.

Ce titrage revient à chercher le nombre de germes viables avant et surtout après lyophilisation. A cet effet, des dilutions en progression géométrique de raison 10 sont réalisées dans le milieu de culture standard pour PPLO que nous employons couramment (27) ; le vaccin frais

(\*) F.J. Stokes Cie, Philadelphie 20, Penn., U.S.A.

(\*\*) Bioverre, rue Lavoisier, Pantin (Seine).

est dilué directement, le vaccin lyophilisé ramené à son volume primitif avec de l'eau distillée. Les tubes de dilutions sont portés à l'étuve à 37° pendant une semaine, temps au bout duquel on lit le titre (tableau I).

de la lyophilisation est sans doute due à la pauvreté en cristalloïdes du mélange avant dessiccation et à sa haute teneur en protéines. On est cependant loin des résultats obtenus avec les P.P.L.O. aviaires, où 25 p. 100 de la culture

TABLEAU I

Titrage du vaccin in vitro

Numéro du lot	Jour moyen de mort	Rendement en pourcentage	Titre du vaccin (nombre d'organismes par ml, exprimé par l'inverse de la puissance)	
			frais	lyophilisé *
5	-	-	7	5
6	-	-	7	5
7	5,4	42	-	-
9	6,9	66	7	-
10	5,0	83	8	lyoph. défectueuse
11	5,5	73		
12	5,0	66	7	7
13	4,9	84	8	6
14	4,3	80	-	6
15	3,8	66	7	7
16	4,1	61	-	8
17	4,2	75	-	7
18	5,7	74	-	6
19	6,5	39	-	5
20	4,9	70	9	6
21	5,3	79	7	lyoph. défectueuse
23	3,8	66	-	6
24	4,1	43	contaminé	
25	4,2	84	-	7
26	4,6	76	8	7
28	4,0	79	-	7
29	4,3	50		7
	$\bar{x} 4,8 \pm 0,19$	$\bar{X} = 67,8$		

\* ramené à son volume primitif pour effectuer le titrage

- non effectué.

La lyophilisation fait perdre au titre une, quelquefois deux puissances logarithmiques. C'est un progrès par rapport à ce qu'ont obtenu GRAY et TURNER (7) et PRIESTLEY (8) qui avaient des pertes de deux puissances logarithmiques (autrement dit, 1 p. 100 seulement de la culture était viable après lyophilisation). Cette amélioration

primitive est viable après cryo-sublimation (34). Un effort est donc à accomplir sur le procédé de cryo-sublimation ; il n'améliorera pas les qualités du vaccin livré en brousse mais permettra au laboratoire d'abaisser son prix de revient par augmentation des doses vaccinales pour un même lot de fabrication.

*β) In vivo.*

Au début de l'étude de ce vaccin, il était nécessaire d'établir la corrélation qui existait entre d'une part le nombre de germes viables inoculés, et d'autre part l'apparition et la persistance de l'immunité. Le mode d'inoculation (sur lequel nous reviendrons plus loin) pouvait avoir également une influence.

pratique de brousse, de l'eau à température ordinaire ou légèrement rafraîchie par le procédé basé sur le principe de l'alcarazas, qu'emploient tous les broussards, convient parfaitement. On s'efforcera de maintenir le produit reconstitué à l'abri des rayons directs du soleil et on veillera à ce qu'il soit utilisé au plus tard dans l'heure suivant sa redissolution.

TABLEAU II

Relations entre la richesse du vaccin,  
son mode d'inoculation et l'immunité subséquente

VACCIN		Nombre d'animaux inoculés	Nombre d'animaux montrant des réactions locales	Durée moyenne des agglutinines, en jours	Durée de l'immunité en mois
Titre minimum	Voie d'introduction				
$10^4$	mufle	250	0	20	3
$10^5$	mufle	25	0	35	7
	sous-cutanée	10	10	41	7
$10^6$	mufle	25	0	80	8 minimum
	sous-cutanée	42	42	80	8 minimum

Trois lots de vaccin, l'un titrant  $10^4$  organismes viables par ml de vaccin reconstitué, l'autre  $10^5$  et le troisième  $10^6$ , furent inoculés à trois séries de bœufs à sérologie péripneumonique négative, une partie des animaux recevant le produit sous la peau de l'encolure, l'autre dans le mufle.

Le tableau II résume les résultats. Il y apparaît clairement que le chiffre de 10.000 organismes viables est insuffisant, où tout au moins que le stimulus antigénique déterminé par 100.000 ou 1 million de germes est de qualité très nettement supérieure. Ces deux titres couvrent les besoins de la pratique courante.

### C) Pratique de la vaccination.

#### 1. — Matériel.

Le vaccin, conditionné sous vide à l'état lyophile en flacons de 20 cm<sup>3</sup> à bouchon perforable, est remis en suspension par introduction de 20 ml d'eau distillée stérile ; la remise en suspension est pratiquement instantanée. Pour la

Le matériel d'inoculation de choix est la seringue automatique de 20 ml, forme pistolet (mais tout autre seringue capable de fractionner des doses de 1 ml convient aussi bien) ; on la monte avec des aiguilles de 1,5 cm de long et de 8 ou 10/10 de diamètre.

#### 2. — Choix du lieu d'inoculation.

Les premiers rapports des expériences de PIERCY au Kenya avec ce vaccin (21), les expériences suivantes (20, 22), laissaient prévoir un certain pouvoir pathogène de la souche T<sub>3</sub> à son 33<sup>e</sup> passage en œuf embryonné. C'est ce que nous avons pu vérifier nous-mêmes à plusieurs reprises ; les relations suivantes en sont les témoins.

Trois jeunes zébus de race arabe à sérologie péripneumonique négative furent inoculés par voie sous-cutanée au niveau du milieu de l'encolure avec 1 ml du vaccin souche T<sub>3</sub>, 34<sup>e</sup> passage, titrant  $10^5$  organismes viables par ml. Une très grosse réaction, du volume d'un ballon de



rugby, se produisit ; les animaux maigriront énormément, à tel point que l'on dut différer l'épreuve virulente en vue de laquelle ils avaient été vaccinés. La réaction locale alla en s'amoindrissant, mais était toujours perceptible après quatre mois, laissant un placard induré sous-cutané. On avait reproduit ni plus ni moins qu'un phénomène de Willems, traînant certes, mais indésirable dans la pratique.

Trois autres zébus, à sérologie également négative (\*), furent inoculés avec 0,5 ml du même vaccin par voie sous-cutanée à l'extrémité de la queue. Sur les trois animaux une tuméfaction énorme de l'organe s'ensuivit, débutant une quinzaine de jours après l'inoculation. Des sphacèles se détachèrent sur l'un des animaux, imposant l'amputation de la moitié de la queue. Ces résultats n'étaient guère prometteurs ; les réactions extrêmement violentes enregistrées, de beaucoup supérieures à celles d'un « vaccin de culture », quasi analogues à celles données par une lymphé de virulence modérée, dépassaient en intensité celles que PIERCY signalait comme acceptables avec cette même souche au même passage. Qu'il nous soit permis, entre parenthèses, de remarquer que la sensibilité à la péripneumonie du zébu arabe du Tchad est au moins égale à celle du bétail indigène de l'Est-Africain, invalidant la supposition inverse qu'avait faite PIERCY (19).

L'impression générale que l'on avait sur la virulence de la souche T<sub>3</sub>/33 inoculée par voie sous-cutanée fut confirmée à deux autres reprises quand, par comparaison avec la méthode d'inoculation préconisée plus bas, le vaccin fut introduit par cette voie. Invariablement de gros œdèmes s'ensuivaient au point d'inoculation, déterminant un amaigrissement notable des animaux.

(\*) Le fait que nous étudions le comportement sérologique (agglutination rapide sur lame et déviation du complément) des bovins que nous employons n'implique pas que nous considérions que les anticorps responsables de l'agglutination et de la déviation du complément soient également microbicides et éventuellement antitoxiques. Ils n'apportent que l'indication de la non-infection récente de l'organisme bovin par des *Mycoplasmataceae* et ne présagent rien de son immunité envers la péripneumonie. Tout au plus peut-on dire que le bovin qui sera immun de date récente aura vraisemblablement des anticorps agglutinants. La proposition inverse doit par contre être considérée comme fautive. Ces tests sérologiques ne servent donc qu'à faire un tri parmi des bovins tout-venant.

Ces considérations nous conduisirent à employer la voie du mufle que nous avions expérimentée quelques temps auparavant avec des « vaccins de culture ».

Dans son mémoire de 1852, L. WILLEMS (1) signale que, pour éviter les engorgements survenant dans les régions périphériques du corps lors de l'inoculation de lymphé, il réalisa celle-ci au niveau des oreilles ou à l'extrémité des naseaux, mais que là encore, « les engorgements qui apparaissent déterminaient des risques » ; c'est alors qu'il recommanda l'inoculation à l'extrémité de la queue qui depuis a été universellement suivie.

H. BOULEY en 1854 (29) affirme que l'inoculation au pourtour des naseaux est « défendue sous peine de mort » (l'expression est de lui).

Aucune autre relation ayant trait à l'inoculation au pourtour des naseaux ou au mufle n'apparaît dans la littérature sur la péripneumonie hormis l'observation de DELAFORGE en 1885 (31) qui signale n'avoir pas transmis la péripneumonie par badigeonnage du mufle et des naseaux avec de la sérosité péripneumonique ; retenons le fait qu'aucune lésion locale n'était apparue à la suite de ce badigeonnage.

En 1955, J. ORUE (30) rapporte les expériences qu'il a faites au Laboratoire G. Curasson, à Dakar, sur des essais de transmission de la péripneumonie par inoculation de lymphé dans la pituitaire et dans le mufle. Les techniques opératoires ne sont pas indiquées, mais les résultats exposés sont explicites : la péripneumonie n'est pas transmise de cette manière ; aucune réaction locale chez les zébus (ou une réaction bénigne chez les taurins) ne suit l'inoculation ; les anticorps dévient le complément avec l'antigène de Turner (32) apparaissent dans le sérum des inoculés.

Ces résultats si prometteurs, mis en évidence pour la première fois, rappelons-le, par J. ORUE, nous ont paru receler dans leur sein l'une des solutions au problème de l'immunisation dans la péripneumonie. C'est pourquoi dès que nous avons eu connaissance en juillet 1956 (lorsque le rapport sur le fonctionnement du Laboratoire fédéral de l'élevage de Dakar pour 1955 nous a été communiqué), nous nous sommes attachés à en tirer des résultats pratiques.

Il nous est apparu en effet que si la lymphé

péripleumonique ne donnait pas de réaction, a fortiori, une culture de *M. mycoides*, atténuée ou non, n'en produirait pas non plus ; c'est ce que l'expérience, à plusieurs reprises, confirma. Mais nous vîmes également que si à ces zébus inoculés au mufle soit avec de la lymphe péripleumonique, soit avec une culture à ses premiers passages, on inoculait en un temps variable de trois semaines à trois mois après la première inoculation, de la lymphe par voie sous-cutanée, aucun phénomène de Willems ne se déclenchait : les animaux étaient immuns.

Les qualités d'innocuité de cette voie d'introduction semblaient telles qu'elle fut préconisée sur le champ aux vaccinateurs utilisant le « vaccin de culture » que nous préparions alors. Les témoignages de satisfaction des utilisateurs furent la sanction de cet emploi ; aucune réaction locale, aucune mortalité post-vaccinale, arrêt des enzooties après la vaccination, satisfaction des éleveurs. Dans la pratique, que demande-t-on de mieux ?

Ayant quelque expérience avec l'inoculation au mufle, nous l'avons alors essayée avec la souche T<sub>3</sub>.

Trois bouvillons, à sérologie péripleumatique négative, reçurent par cette voie 1 ml de la suspension vaccinale lyophilisée puis reconstituée à son volume primitif juste avant l'emploi. Aucune réaction locale ni générale ne se manifesta mais, fait notable, les anticorps agglutinants commencèrent à apparaître le *second jour* après l'inoculation (nous n'avons pas encore trouvé d'explication valable à cette brusque montée d'anticorps), et atteignirent leur plafond en trois semaines. Eprouvés un mois après l'inoculation par injection sous-cutanée de 1 ml de « lymphe » virulente (conservée à -20° et dont la virulence est vérifiée périodiquement), tous trois résistèrent. Forts de ces résultats, nous avons généralisé la méthode.

### 3° Technique d'inoculation.

#### a) Anatomie du mufle du zébu.

Le mufle d'un zébu est anatomiquement constitué (Planche I), en allant de l'extérieur vers l'intérieur, par :

— une peau épaisse, garnie de nombreuses cryptes glandulaires ;

— un tissu fibro-lardacé, de 1 cm d'épaisseur environ, sous-jacent à la peau depuis le chanfrein jusqu'à la lèvre supérieure, et s'étendant latéralement vers les joues, où il disparaît peu à peu. C'est sur ce tissu fibro-lardacé que s'insèrent, dans la partie inférieure du mufle, les branches interne et moyenne du muscle canin, du muscle releveur propre du naseau et celui de la lèvre supérieure. Plus haut, au-dessus des faisceaux musculaires, existe un espace vide virtuel, assez semblable à une synoviale sans synovie, limité par un tissu conjonctif très lâche, et qui semble permettre le glissement des parties superficielles du mufle (peau et tissu fibro-lardacé) sur le cartilage nasal. C'est cet espace vide qui explique la mobilité du mufle des bovins.

La structure histologique de la branche interne du canin semble, en cet endroit, remarquable ; c'est un mélange intime de fibrilles musculaires et de faisceaux fibreux. Il nous apparaît que c'est cette nature particulière du muscle, près de son insertion, qui conditionne le succès de l'intervention. En effet les inoculations réalisées dans d'autres muscles, même avec la souche T<sub>3</sub>, provoquent des réactions locales très graves et condamnent cette voie d'introduction.

#### b) Point d'inoculation.

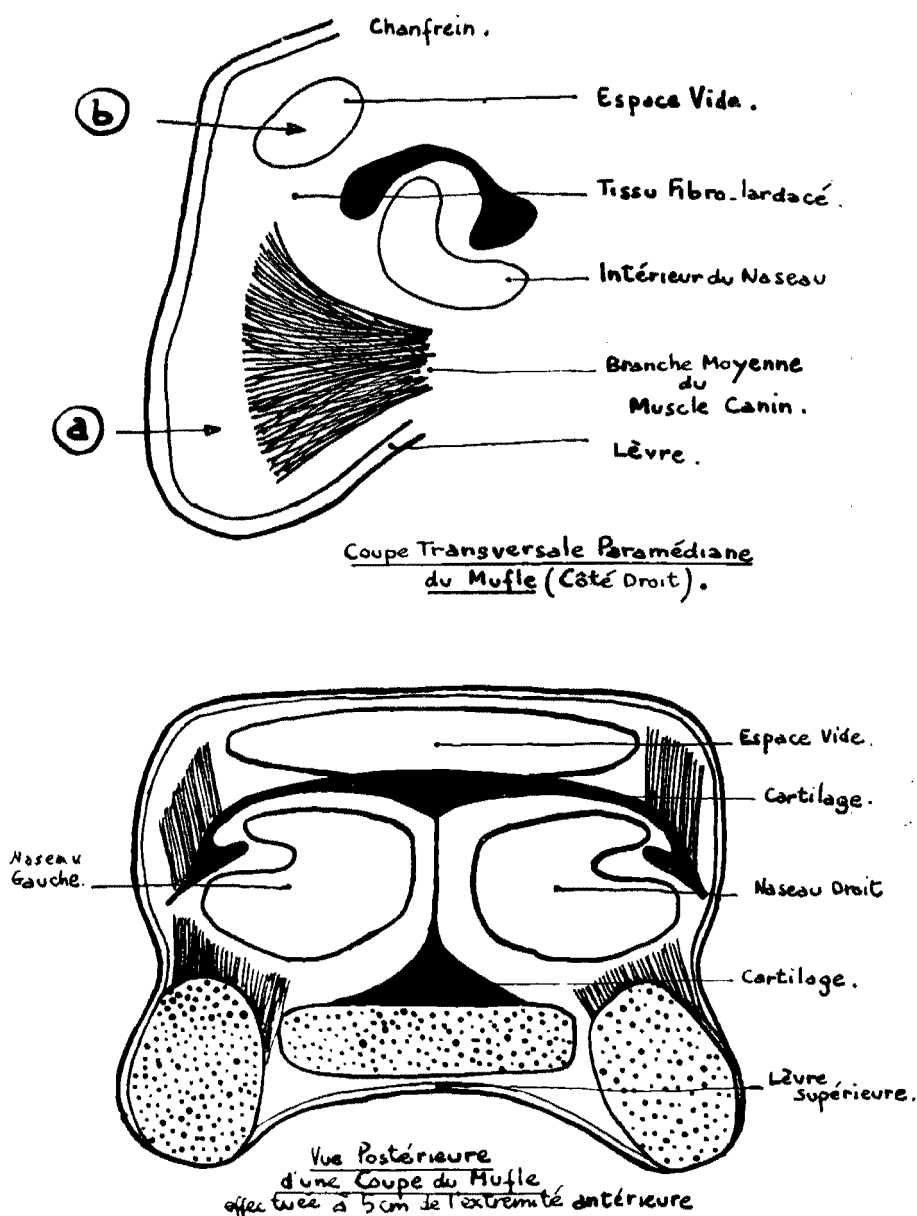
Le lieu d'inoculation a une importance majeure : le point où l'on doit inoculer le vaccin, à l'exclusion de tout autre point, est le croisement de la ligne médiane du mufle et de la ligne fictive qui joint les angles inféro-internes des naseaux (Planche II).

L'aiguille est enfoncée de 1,5 cm environ sur une bête adulte, un peu moins pour un animal plus jeune. On injecte 1 ml de vaccin sans précaution spéciale d'aseptie. On inocule ainsi un minimum d'un million d'organismes viables.

L'inoculation, réalisée au point que nous recommandons, se fait en *a* (voir planches I et II) ; le dépôt de vaccin se réalise donc dans les insertions du muscle canin (branche interne) sur le tissu fibrolardacé du mufle.

Au contraire, si l'on inocule quelques centimètres plus haut, en *b*, le dépôt de vaccin se réalise dans l'« espace vide » ; se trouvent alors réalisées les conditions suffisantes à une réaction

PLANCHE I



willemsienne, qui débute dans ce tissu conjonctif lâche et s'étend sous la peau jugale et glosienne. Nous en parlerons plus loin.

#### 4° Suites normales de l'inoculation.

L'innocuité est totale. Au Cameroun dans la région de l'Adamaoua, sept mille cinq cents têtes de bétail sélectionné, n'ayant jamais été en

contact avec la péripneumonie, n'accusèrent aucune trouble pathologique remarquable. Dans cette même région, deux mille autres têtes de métis zébus-taurins se comportèrent de la même façon rassurante.

L'observation des animaux inoculés permet cependant de noter de précieuses indications sur leur comportement.

# PLANCHE II



a - lieu d'inoculation.

b - zone dangereuse.

## a) Réactions générales.

α) organiques. L'état général est assez peu troublé.

Sur le bétail zébu aucune élévation thermique n'est sensible. Par contre, dès le quinzième jour, une certaine inappétence et une baisse d'état peuvent se manifester. Ces constatations n'ont d'ailleurs été évidentes que sur les animaux de ranches européens étroitement surveillés ; sur le bétail indigène aucune remarque n'a

pu être faite. Un mois après la vaccination, tout est rentré dans l'ordre.

Il est par ailleurs un fait curieux que l'on ne peut passer sous silence car il est d'observation trop courante. La vaccination semble déterminer des accès de toux, débutant quelques jours après la piqure et durant une semaine tout au plus. Il s'agit d'une toux sèche, courte en petites quintes, n'affectant pas outre mesure les animaux ; jamais nous n'en avons observée

ayant les caractères d'une toux grasse de bronchite aiguë. Elle semble être d'origine pharyngée ou laryngée. On peut la déclencher par compression de la gorge. L'auscultation n'apporte aucun renseignement à ce court tableau clinique. On a en gros l'impression d'assister à un début de pharyngite qui tourne court avant sa phase d'état.

Cette toux avait été notée par SHERIFF et PIERCY (16) sur les zébus Masaï du Kenya. Il est remarquable que les Peuhls signalent l'existence d'une toux semblable, apparaissant après la vaccination contre la péripneumonie selon leur procédé (insertion d'une macération de poumon sous la peau du chanfrein); les bêtes qui toussent, affirment-ils n'attraperont jamais la péripneumonie.

On ne peut qu'être frappé de l'apparition de cette toux bénigne. Pourquoi se produit-elle ? Nous en sommes réduits encore aux conjectures ; une hypothèse peut cependant être avancée : il s'agirait d'une toux allergique. Il est en effet une remarque courante qu'en pays d'endémie péripneumonique, les veaux présentent à l'âge de 7 à 8 mois des agglutinines péripneumoniques transitoires ; nous avons interprété ce fait comme celui d'une primo-infection due à des *Mycoplasmataceae* (pulmonaires ou génitax), que surmontait victorieusement le jeune organisme du veau (27). Si cette primo-infection a lieu par les voies aériennes supérieures, avec blocage du germe dans les amygdales et les ganglions rétropharyngiens ainsi que l'a montré CAMPBELL, on peut concevoir que l'on retrouve aux points d'absorption du virus des zones d'hypersensibilité qui réagiront par de la congestion locale lors de la seconde sollicitation antigénique que représente la vaccination. Ce serait une véritable allergie retardée du type tuberculinique localisée au pharynx. Cette manière de voir s'inscrit dans une conception pathogénique de la péripneumonie que nous développons actuellement.

**β) hématologiques.** Les modifications de la formule sanguine dans la péripneumonie n'ont à notre connaissance jamais suscité d'observations suivies ni détaillées ; seul ONO (41) effectuant des recherches sur des animaux à maladie expérimentale, conclut qu'il n'y a aucun changement dans le nombre de globules rouges

mais que, du 7<sup>e</sup> au 8<sup>e</sup> jour, le pourcentage des lymphocytes atteint 72 à 76 p. 100.

Pour ce qui nous occupe, nos observations ont porté uniquement sur la formule leucocytaire du premier au 45<sup>e</sup> jours qui suivent la vaccination (\*).

L'examen a montré une neutrophilie maximale entre les 7<sup>e</sup> et 10<sup>e</sup> jours après l'immunisation avec simultanément une légère lymphopénie.

Du 15<sup>e</sup> jour au 35<sup>e</sup>, on observe les processus contraires : une forte neutropénie et une augmentation considérable des cellules mononucléées qui portent, à différents temps, sur les plasmocytes, les lymphocytes et les monocytes ; on observe ainsi :

- une réaction plasmocytaire située entre le 20<sup>e</sup> jour et le 25<sup>e</sup> ;
- une forte augmentation des lymphocytes du 25<sup>e</sup> jour au 30<sup>e</sup> ;
- enfin du 30<sup>e</sup> jour au 35<sup>e</sup> une monocytose.

Ces modifications hématologiques semblent traduire les réactions immunitaires des animaux car lymphocytes et plasmocytes sont classiquement impliqués dans la formation des anticorps.

#### b) Réaction locale.

Aucune réaction locale visible ne suit l'injection ; seuls les ganglions de l'auge et les préparotidiens peuvent accuser un léger engorgement passager.

Cependant, en pinçant entre deux doigts, introduits dans les naseaux, la cloison nasale des vaccinés, on perçoit un nodule de la grosseur d'une noisette environ, qui s'est établi dans l'épaisseur même du mufle. Ce nodule ne devient perceptible qu'à partir du dixième jour en moyenne. Son volume augmente dans les jours suivants et il atteint son apogée un mois environ après la vaccination. Il est alors gros comme une noisette, au plus une noix, de consistance assez ferme, indolore. Sa formation n'est accompagnée d'aucun trouble physique ou physiologique objectivement perceptible. Par la suite, l'animal diminue de volume, mais sa consistance semble encore s'affermir. Il persiste très longtemps, vraisemblablement toute la vie de l'animal ; nous connaissons en tous cas des bovins qui, au mo-

\* L'étude détaillée de ces résultats paraîtra *in extenso* dans une prochaine publication.





Figure 1. — Coupe transversale paramédiane du mufle d'un bovin quinze jours après la vaccination contre la péricapneumonie.



Figure 2. — Coupe identique à la figure précédente, exécutée trois semaines après la vaccination.

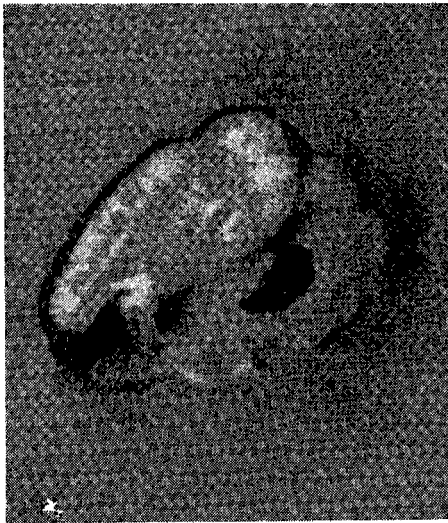


Figure 3. — Coupe identique aux précédentes exécutée un mois après la vaccination.

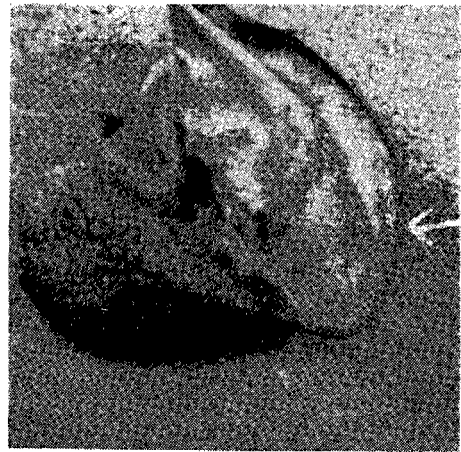


Figure 4. — Coupe identique aux précédentes exécutée sur un bouvillon non vacciné.

ment où nous écrivons, sont vaccinés depuis deux ans et le présentent toujours (\*).

#### α) Etude anatomique.

Si l'on fait des coupes médianes de mufles

(\*) Nous tenons à faire ressortir que ce nodule fibreux ne se modifie pas après son évolution initiale. Il ne saurait être confondu avec le nodule de la vaccination contre la paratuberculose par exemple, qui lui, tant qu'il persiste est le témoin d'une immunité active.

de bovins vaccinés, de huit jours en huit jours à partir de la première semaine, on peut suivre l'apparition et l'évolution de cette petite réaction locale.

Une semaine après l'inoculation, rien n'apparaît si ce n'est un peu d'œdème diffus dans le muscle canin et le tissu fibro-lardacé.

Une semaine plus tard, par contre, s'est constitué entre l'insertion du muscle canin et le

tissu fibro-lardacé un petit foyer blanc-jaunâtre, pulpeux, de consistance molle, indolore (figure 1).

Trois semaines après la vaccination, ce foyer s'est nécrosé ; le centre en est devenu caséeux, homogène, tandis qu'à la périphérie se délimite une coque fibreuse qui encapsule le foyer central.

remplacée par un tissu granuleux, résistant (figure 3). Cette image est encore plus frappante la semaine suivante, où l'on ne remarque plus qu'un petit nodule fibreux ; c'est lui qui persistera. L'évolution au total se fait en six semaines au plus.

β) Du point de vue histologique.

Le nodule constitué présente deux zones dis-

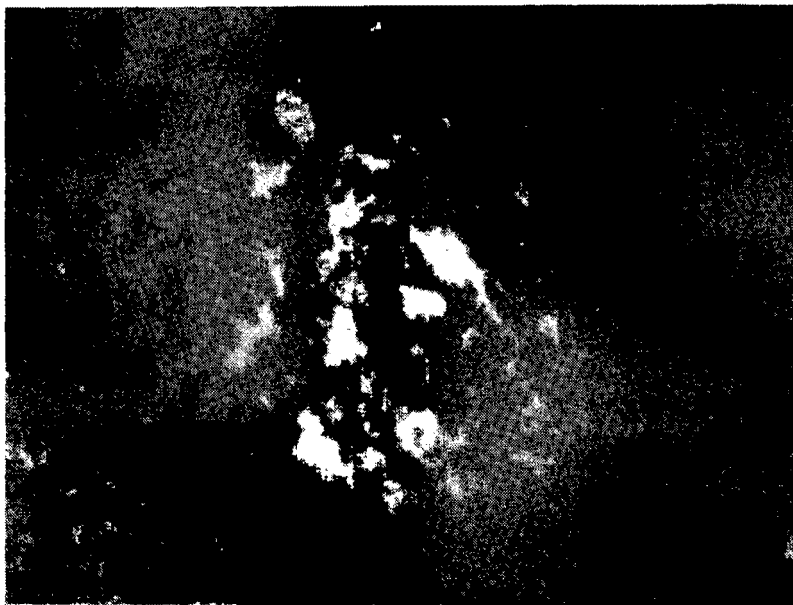


Figure 5. — Reaction perivascular « en cocarde » dans le nodule réactionnel Hemat-éos, Gros, 500x environ.

Il semble qu'au milieu de cette zone de nécrose se détachent des sortes de fils, quelquefois de boudins. Nous verrons qu'ils correspondent aux capillaires sanguins, individualisés par une gaine inflammatoire, et rendus ainsi très apparents.

Il est à remarquer que, hors des points que nous venons de décrire, les tissus avoisinants semblent ignorer la constitution de cette lésion. On ne trouve trace d'aucune congestion ni d'œdème inflammatoire ce qui correspond bien à l'absence de signes cliniques accompagnant la vaccination (figure 2).

Un mois après l'inoculation, le nodule est bien distinct ; la matière caséreuse centrale a disparu,

tinctes ; un centre inflammatoire puis nécrotique, et une coque néofibroblastique.

Autour du dépôt de vaccin se forme une couronne de cellules rondes où prédominent plasmocytes et lymphocytes. Les capillaires sanguins régionaux se congestionnent, une infiltration fibrinaire de toute la région est manifeste.

Dans les coupes du quinzième jour l'infiltration plasmolymphocytaire est très abondante ; elle forme, tendue sur une trame de fibrine, tout le fond de l'image microscopique. On peut remarquer, dès ce stade, une lésion caractéristique (figure 5), la présence d'une gaine périvascular plasmolymphocytaire, gaine qui va par la suite se différencier en 3 couches : une

couche profonde, accolée à l'endothélium vasculaire, constituée de plasmocytes et lymphocytes normaux ; une couche médiane, faite de cellules du même type en pleine nécrose ; une couche périphérique enfin où l'on assiste à un remaniement fibroblastique d'histiocytes et de plasmocytes. Il est à noter combien est nette cette « image en cocarde », si particulière avec ses trois zones, que l'on trouve classiquement dans le poumon péripneumonique.

Cette lésion périvasculaire se retrouve dans le voisinage de la lésion ; les capillaires interfibrillaires du muscle canin la présentent également. On conçoit ainsi aisément la formation des filaments que l'on reconnaît macroscopiquement dans le foyer inflammatoire : ce sont les capillaires et leur gaine.

Une question reste posée : Quelle est la finalité de cette lésion ? Forme-t-elle un rempart protecteur autour du vaisseau ? Nous inclinons vers l'explication suivante. Les produits toxiques du microbe péripneumonique, quel qu'en soit la nature exacte, produisent un appel de cellules monocytaires qui diapédésent au niveau du foyer microbien, d'où la première image d'infiltration. Mais le conflit cellules monocytaires-germes, par le processus ordinaire de la phagocytose, se poursuit par la victoire des derniers par suite de l'action nécrosante de leur poison. La réaction organique est alors celle de l'encapsulation de la lésion nécrotique, de l'élimination hors du circuit de l'organisme.

A la troisième semaine, l'infiltration que nous avons signalée fait place à une nécrose quasi totale. Sur la coupe, les cellules monocytaires se désintègrent, les noyaux se picnosent, puis disparaissent ; on ne retrouve plus que les débris. Par contre les gaines périvasculaires conservent leur individualité. En bordure du tissu sain se différencie une zone fibroblastique à partir des cellules monocytaires d'infiltration, dont on voit les protoplasmes et noyaux de quelques-unes s'allonger. Ainsi se trouve constitué le foyer nécrotique encapsulé que l'on voit à la coupe macroscopique du mufle.

L'image histologique des coupes des mufles des vaccinés depuis un mois montre la progression de la refonte fibroblastique. Sur la trame réticulaire se sont disposées des cellules histiocytaires qui subissent l'évolution de type fibro-

blastique. Un tissu fibreux de néoformation remplace peu à peu le centre du nodule ; c'est sa présence que notèrent les vaccinateurs lors de la revaccination.

*Conséquences de la réaction locale pour la revaccination.* La présence du nodule fibreux réactionnel peut être une gêne pour la revaccination. Quelques utilisateurs s'en plaignirent. Cette observation nous a conduit à préconiser la revaccination par voie sous-cutanée au milieu de l'encolure. L'immunité résiduelle des animaux déjà vaccinés est suffisante pour empêcher l'évolution des réactions locales observées sur du bétail non immum recevant la souche T<sub>8</sub> par voie sous-cutanée.

### 5. - Accidents de vaccination.

Ils existent, et sont de deux ordres :

— ceux qui peuvent se produire dans tous les troupeaux, et qui sont dus à « des erreurs de lieu » d'inoculation ;

— ceux que l'on n'observe que dans des troupeaux atteints de péripneumonie et qui se traduisent par une mortalité post-vaccinale.

a) *Accidents par « erreur de lieu ».* Comme nous l'avons écrit plus haut, l'innocuité de l'inoculation au mufle est totale. Néanmoins quelques échos alarmants nous parvinrent au début de la généralisation en brousse de la méthode.

Une rapide enquête sur l'origine de ces accidents de vaccination nous montra qu'ils étaient localisés à une circonscription bien délimitée et n'étaient apparus nulle part ailleurs. Ils semblaient le fait d'un même vaccinateur plutôt que d'un lot de vaccin. En regardant opérer ce vaccinateur, nous eûmes l'explication de ces réactions indésirables.

En effet, si au lieu de planter l'aiguille au point a préconisé (Planches I et II), on le plante plus haut sur le mufle (en b par exemple) le vaccin se trouve déposé dans l'« espace vide » conjonctif que nous avons signalé. On aboutit alors à une catastrophe : trois semaines environ après la vaccination, un oedème, débutant au point d'inoculation, envahit peu à peu le tissu conjonctif sous-cutané de la tête, donnant à l'animal une « tête d'hippopotame » (figure 6).





Figure 6. — Réaction vaccinale ayant entraîné la mort. La vaccination au mufle a été effectuée 2 cm plus haut que le point recommandé.

Si on laisse évoluer cette réaction, phénomène de Willems localisé à la tête, la mort survient une huitaine de jours après le début des symptômes. Le traitement au novarsénobenzol ou à l'auréomycine permet de juguler l'extension de l'inflammation et de sauver les animaux. L'autopsie des zébus morts après avoir présenté cette violente réaction montre au point d'inoculation une grosse masse nécrotique baignant dans un liquide d'infiltration qui rappelle beaucoup la « lymphe péripneumonique ».

Le bien-fondé de l'explication de ces accidents fut confirmé par leur reproduction volontaire au laboratoire en injectant délibérément le vaccin au point b ; dans tous les cas des réactions énormes suivirent la vaccination.

Les accidents que nous venons de relater ne se comptent que par quelques unités sur les dizaines de milliers de vaccinations réalisées. Malgré les précautions qu'il faut prendre, on ne doit pas s'exagérer les difficultés de la méthode ; les vaccinateurs africains s'y sont très rapidement adaptés et arrivent à réaliser dix à douze vaccinations à la minute lorsque la contention des bovins est correctement exécutée.

#### *b La mortalité post-vaccinale.*

Nous tenons à faire une fois de plus ressortir que l'innocuité de la vaccination, dans un troupeau indemne de péripneumonie, est totale. Les accidents de vaccination que nous relateront maintenant ne s'observent que dans des troupeaux où sévit l'épizootie.

Lorsque l'on intervient dans ces conditions — c'est malheureusement la très grande majorité des cas au Centre-Afrique — il semble que l'on assiste dans les jours suivants à une brusque flambée de l'épizootie.

En effet, quelques jours après la vaccination, un certain nombre de bovins, dont la proportion ne semble guère dépasser 10 p. 100 du troupeau, meurent de péripneumonie après une maladie véritablement foudroyante ; apparemment sains au moment de l'intervention, leur mort frappe l'observateur. Cet épisode se clôt très vite ; une dizaine de jours plus tard toute mortalité cesse et le restant du troupeau se trouve immunisé.

Cette observation est loin de concorder avec celle de SHERIFF et PIERCY (16) qui avaient cru voir un véritable « phénomène d'interférence » après la vaccination du bétail d'un troupeau infecté de péripneumonie. Loin de souscrire à l'opinion de ces auteurs, nous pensons tout au contraire que la vaccination d'un tel troupeau se manifeste par trois ordres de faits sur les animaux :

- immunisation certaine et rapide des bovins non encore infectés ;

- effet nul ou tout au moins inappréciable sur les bovins atteints de péripneumonie évolutive ;

- activation des foyers de péripneumonie latente des porteurs (vieilles lésions cicatrisées où subsiste encore le germe spécifique ; foyers ganglionnaires de porteurs sains, mis en évidence par les chercheurs australiens).

Cette action pathogène indirecte du vaccin n'est pas sans rappeler les réactions focales dues à l'injection de tuberculine à un organisme tuberculeux, et se rapproche étrangement des accidents post-vaccinaux qu'ont relatés de nombreux auteurs (36, 37), mettant en lumière le rôle déchaînant d'une vaccination spécifique sur des porteurs sains de certains microbes. Ces accidents post-vaccinaux sont bien connus dans le rouget du porc, par exemple, maladie que le saprophytisme de son microbe causal permet de comparer à la péripneumonie. Il est apparu que l'injection de vaccins tués contre le rouget « déclenche l'actualisation de l'allergie potentielle présentée par des porcs en infection latente » (42).

Des expériences sont actuellement en cours pour expliquer le mécanisme pathogénique intime de ces accidents, mais nous pouvons dès maintenant avancer l'hypothèse suivante : on peut supposer en effet que l'on a affaire, chez des bovins en incubation ou porteurs chroniques, à des manifestations allergiques focales explosives où la vaccination représenterait l'inoculation déchaînante ; la congestion, due à l'état d'hypersensibilité localement créée dans le foyer infectieux, disloquerait ce dernier et conduirait à un essaimage des germes.

Bien qu'existant vraisemblablement avec les vaccins de culture en milieu liquide, cette sorte d'accident est certainement plus rare qu'avec les vaccins avianisés. Il faut en effet tenir compte de la masse antigénique (qu'on peut supposer allergisante) inoculée, incomparablement supérieure dans notre procédé par rapport à celle que l'on emploie avec les souches virulentes inoculées par les voies conventionnelles. Ces accidents sont-ils vraiment néfastes ? (\*). Si l'on se place sur le plan de la police sanitaire de la péripneumonie en Afrique, on peut répondre : non. La vaccination d'un troupeau infecté réalise un véritable « stamping-out » d'animaux potentiellement dangereux et rejoint ainsi la mesure préconisée il y a quelques années par les services vétérinaires

du Cameroun pour la prophylaxie sanitaire de l'épizootie, qui consistait à intervenir au moyen du virus capripneumonique dans les foyers de péripneumonie. Les bovins non contaminés bactériologiquement sortiront par contre immunisés de l'opération.

Il est bien certain que cette manière de voir ne peut se concevoir que pour des troupeaux sans valeur commerciale, et doit s'inscrire dans un plan de lutte coordonnée contre la péripneumonie. Lorsque l'on a affaire à un troupeau de quelque valeur dans lequel sévit la péripneumonie, il sera sage, avant de procéder à la vaccination, de s'assurer de l'absence de l'infection péripneumonique des animaux en les soumettant à un examen clinique minutieux et en sondant leurs réactions sérologiques par test d'agglutination rapide sur lame. Les réagissants positifs seront dirigés vers la boucherie dans le plus bref délai, et la vaccination sera réservée aux réagissants négatifs pour lesquels aucune suite fâcheuse ne sera à craindre.

Cette politique n'est malheureusement applicable qu'à des éleveurs d'un niveau intellectuel suffisant pour pouvoir la comprendre et n'a été mise en pratique au Tchad que dans les élevages européens.

## D) Résultats.

### 1. — Apparition de l'immunité.

Nous n'avons pas eu l'occasion d'étudier au laboratoire cet aspect du problème, et ce que nous écrivons est surtout dicté par les résultats de la pratique.

Des anticorps agglutinants apparaissent dès le second jour après la vaccination (ce qui ne veut pas dire que l'immunité apparaisse ce jour là). Il se peut que l'on assiste simplement à une réaction anamnésique d'une infection antérieure à P.P.L.O. (saprophytes, génitaux ou pulmonaires). Toujours est-il que la protection conférée est rapide ; c'est vu sous cet angle que l'on peut parler du « phénomène d'interférence » qu'avaient signalé SHERIFF et PIERCY (16). L'expression est d'ailleurs impropre, car ce n'est pas une interférence cellulaire comme dans une infection à virus, mais vraisemblablement une immunité par anticorps circulants. Ce que l'on observe en tous cas dans les troupeaux vaccinés, c'est la cessation

(\*) Remarquons que les éleveurs autochtones, pour la plupart assez fatalistes, ne semblent pas avoir établi de relation de cause à effet entre la vaccination et cette mortalité post-vaccinale ; en tous cas, aucune récrimination ne nous est parvenue ; tout au contraire, la vaccination connaît leur faveur.



de la mortalité une dizaine de jours après la vaccination ; ce résultat est fonction de la rapidité d'intervention après le début de la maladie.

## 2. — *Durée de l'immunité.*

En valeur absolue, elle est fonction de la richesse en germes viables du vaccin (tableau II). Le vaccin que nous délivrons actuellement, titré à 1 million minimum de germes par ml, protège pendant un an au moins les animaux inoculés placés dans un milieu infecté.

Eprouvés expérimentalement au laboratoire, par voie sous-cutanée avec 1 ml de « lymph » huit mois après la vaccination, huit bovins sur huit résistèrent.

Dans une autre expérience, menée grâce à la complaisance d'une société de boucherie propriétaire d'un ranch d'élevage au Tchad, un groupe de vingt zébus adultes vaccinés depuis le même laps de temps ne montrèrent aucune lésion sous-cutanée au point d'inoculation de « lymph », inoculation exécutée dix jours avant l'abattage.

## 3. — *Application sur le terrain.*

Dans la pratique, la vaccination contre la péripneumonie peut viser deux objectifs :

— protéger des troupeaux ou une région indemne de l'épizootie. Le cas se présente au Centre-Afrique pour les ranches d'élevage. La vaccination y a un effet certain. L'an dernier par exemple, la région de l'Adamaoua, au Centre-Cameroun, a été menacée par une épizootie en provenance de la République Centrafricaine (ex-Oubangui). Un cordon sanitaire, puis la vaccination massive ont endigué l'épizootie. Aucun accident, aucune mortalité post-vaccinale n'ont été signalés.

— protéger les animaux d'un troupeau où sévit l'épizootie. C'est à l'heure actuelle, la majorité des interventions qu'ont à effectuer les services vétérinaires dans la lutte contre la péripneumonie, les éleveurs ne demandant la vaccination que lors de la constatation de la maladie parmi leur bétail.

La pratique montre que les foyers de péripneumonie dans lesquels on est intervenu avec le vaccin avianisé sont assainis ; cet heureux effet est dû à l'immunisation des bovins sains associés au « stamping-out » des porteurs chro-

niques et faux guéris par le phénomène allergique dû au vaccin. Nous avons ainsi l'exemple de toute une région (district de Bouar, en Oubangui) où la maladie a disparu ; au Tchad, un élevage européen qui était profondément infecté il y a deux ans se maintient libre de la contagion par la vaccination annuelle de son bétail et l'immunisation systématique de ses nouveaux achats dont la majeure partie provient de troupeaux contaminés.

## III. DISCUSSION

Il n'est pas sans intérêt, arrivé au terme de ce rapport, d'établir la comparaison entre la vaccination willemsienne, celle par cultures liquides atténuées, et l'immunisation enfin par la souche avianisée T<sub>3</sub>. Le tableau III en résume les différents points. Ceux-ci plaident tous en faveur du vaccin avianisé inoculé dans le mufler. Ses critères de supériorité portent principalement sur la stabilité de la virulence, la possibilité de stockage permettant de limiter la période annuelle de production d'un laboratoire, la bénignité des réactions liée à une immunité néanmoins certaine.

Certains points méritent d'être soulignés :

— *quant à la cryo-sublimation.* — Celle-ci s'effectue d'une manière particulièrement aisée, fournissant un produit final d'une richesse suffisante en germes viables, ce qui n'est pas souvent le cas lorsque l'on veut cryo-sublimier directement une culture en bouillon ;

— *quant à la création d'une lésion locale.* NOCARD et LECLAINCHE (39) affirmaient, il y a une cinquantaine d'années « la durée de l'immunité est mal déterminée... elle est en général supérieure à un an. On doit considérer comme seuls immunisés les animaux qui ont présenté un engorgement manifeste dans la région inoculée », nous estimons que l'on ne peut que souscrire, de nos jours encore, à ces écrits. C'est sans doute l'un des points faibles des cultures atténuées en bouillon-sérum et surtout des vaccins introduits par les voies d'inoculation conventionnelles ; trop virulents, ils entraînent de très graves réactions (le vaccin avianisé T<sub>3</sub> mérite ce reproche lorsqu'il est inoculé sous la peau ou à la queue) ; trop atténués, ils n'entraînent aucune lésion locale et ne vaccinent pratiquement pas.

TABLEAU III

Comparaison des 3 types de vaccins antipéripleumoniques vivants

	Vaccination willemsienne	Cultures liquides atténuées	Souche avianisée T <sub>3</sub>
Virulence	Très grande, pratiquement toujours la même. Lyophilisation aisée.	Variable selon les souches, les laboratoires, les passages. Lyophilisation délicate.	Moyenne; fixée une fois pour toute au 38 <sup>e</sup> passage. Possibilité de lyophilisation.
Production et conservation	Difficile. Tributaire de foyers naturels.	Aisée. Stockage limité, d'où nécessité d'une production continue.	Aisée. Stockage facile au congélateur, d'où production discontinue.
Prix de revient	Minime	Modique	Modique
Emploi	Aisé dans les foyers. Transport sous froid. Inoculation simple.	Transport sous froid. Inoculation simple.	Transport sous froid. Inoculation simple.
Réactions vaccinales	Violentes. Pouvant entraîner des mutilations ou la mort	Pratiquement inexistantes ou bien d'intensité égale à la vaccination willemsienne	Limitées au nodule vaccinal dans le muflle.
Immunité	Solide. Dure au moins un an.	Ephémère, lorsqu'elle s'établit.	Pratiquement 1 an.

Le vaccin avianisé T<sub>3</sub>, inoculé dans le muflle, allie par contre l'innocuité entière pour l'animal à la production d'une petite lésion locale garante d'une immunité certaine. Point n'est besoin dans ces conditions de chercher des « adjuvants de l'immunité », telle la gélose dans certaines techniques étrangères, dont le rôle vise précisément à la création d'une lésion locale. En ce qui concerne la péripleumonie, nous jugeons qu'il est illusoire de penser que les « adjuvants » agissent autrement qu'en freinant la résorption locale d'antigène ; c'est pourquoi il semble plus simple de faire appel à la voie du muflle où une lésion locale — dans laquelle cultive le *Mycoplasma* — est apte à se créer et à s'encapsuler en produisant un appel plasmo-lymphocytaire, que d'ajouter au vaccin une solution gélosée au moment de l'emploi, rendue fluide par chauffage à 50°. Cette pratique s'avérerait de surcroît des plus dangereuses dans les mains de vaccinateurs inexpérimentés. On aurait pu craindre que les vaccinateurs fassent preuve de quelque réticence ; or depuis plus de deux ans qu'ils pratiquent la méthode, rien ne s'est manifesté en ce sens.

— quant à la mortalité post-vaccinale. — Loin de la considérer comme dramatique, elle doit, tout au contraire, être jugée comme heureuse. Pour l'éleveur, c'est une occasion de manger de la viande (nous n'exagérons rien) ; pour la collectivité, c'est un bienfait. Lorsqu'une politique cohérente de lutte contre la péripleumonie aura vu le jour dans le Centre-Afrique, l'indemnisation des propriétaires qui auront perdu des animaux après la vaccination éliminera tout obstacle moral. A l'heure actuelle, la vaccination a l'avantage de coupler les actions sanitaires et prophylactiques et semble particulièrement bien adaptée au pays.

Pour conclure il nous apparaît que le grand progrès réalisé dans l'immunisation contre la péripleumonie réside moins dans l'emploi d'une souche avianisée que dans le choix du lieu d'inoculation. A cet égard le muflle, inoculé au point que nous avons indiqué, est particulièrement tolérant. J. ORUE à Dakar et nous-mêmes à Farcha avons pu constater que les souches de péripleumonie très virulentes peuvent être impunément inoculées en ce point ; la réaction locale subséquente est tout autant

bénigne que celle produite par la souche T<sub>2</sub>. Il sera donc intéressant de voir si un autre progrès ne peut être réalisé en utilisant une souche virulente possédant toutes les fractions antigéniques des souches isolées; la méthode de typage des souches de P.P.L.O. que nous avons précédemment exposée (40) doit permettre l'isolement et la reconnaissance d'une telle souche. Ainsi pourront s'établir des campagnes d'immunisation d'une innocuité et d'une efficacité certaines.

Ce ne doit pourtant pas être le dernier perfectionnement à apporter à la vaccination. Le typage sérologique et les essais immunigènes de différentes souches nous conduisent à penser que l'antigène immunisant est celui auquel nous avons attribué la notation 2 (40). L'iso-

ment de cette substance à l'état pur, et sa synthèse, devront conduire à une vaccination chimique contre cette infection, vaccination analogue à celle que l'on peut employer dans les pneumococcies.

*Institut d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux.*

*Laboratoire de recherches vétérinaires de Farcha, Fort-Lamy (Tchad).*

A la fin de cet article, qu'il nous soit permis de remercier nos confrères des Services vétérinaires du Tchad, du Cameroun et de la République Centrafricaine, qui nous ont apporté toute l'aide désirable lors de l'expérimentation du vaccin avianisé.

## BIBLIOGRAPHIE

1. WILLEMS (L.). — **Mémoires sur la pleuropneumonie enzootique du gros bétail.** Rec. Méd. vét., 1852, **28**, 401.
2. WALKER (J.). — **Experiments and observations in connection with Pleuropneumonia contagiosa bovis and the preventive method of inoculation.** Dept. Agr. Kenya Colony Bull. N° 2, 1921, 176.
3. BENNETT (S. C. J.). — **Contagious bovine pleuropneumonia.** Culture vaccines. *Proceedings of the Pan — African agricultural and veterinary Conference, Pretoria, 1929*, **1**, 118.
4. DA SILVA ARAUJO (J. N.). — **Méthodes de prophylaxie de la péripneumonie contagieuse en Afrique.** *Rapports des premières journées panafricaines de zootechnie Alger, 1954*, 53-66.
5. PRIESTLEY (F.-W.). — **Freeze-drying of the organisms of CBPP.** *J. comp. Path.*, 1952, **62**, 125.
6. Cité par RECEVEUR (P.). — **Péripneumonie contagieuse des bovidés en A.E.F.** Bull.
7. GRAY (D.-F.) et TURNER (A.-W.). — **Viability and immunizing potency of freeze dried bovine contagious pleuropneumonia culture vaccine.** *J. comp. Path.*, 1954, **64**, 116.
8. PRIESTLEY (F.-W.). — **Immunization against contagious bovine pleuropneumonia with special reference to the use of a dried vaccine.** *J. comp. Path.*, 1955, **65**, 168.
9. PRIESTLEY (F.-W.). — **Further observations on immunity to contagious bovine pleuropneumonia, with special reference to adjuvants.** *Vet. Rec.*, 1955, **67**, 729.
10. DAFAALLA (E.-N.). — **A preliminary investigation into the adjuvant action of some substances on dried C.B.P.P. organisms.** *Vet. Rec.*, 1956, **68**, 393.
11. PRIESTLEY (F.-W.) et DAFAALLA (E.-N.). — **Immunisation against CBPP using dried orga-**

- nisms and adjuvant. *Bull. Epiz. Afr. (I.B.E.D.)*, 1957, **5**, 177.
12. TANG (F.F.), WEI (H.) et EDGAR (J.). — Further investigations on the causal agent of bovine pleuropneumonia. *J. Path. Bact.*, 1936, **42**, 45.
  13. SWIFT (H.F.). — Capacity of Pleuropneumonia like microorganisms to grow on chorio-allantoic membranes. *J. exp. Med.*, 1941, **74**, 557.
  14. SHERIFF (D.) et PIERCY (S.E.). — Experiments with an avianised strain of the organism of contagious bovine pleuropneumonia. *Vet. Rec.*, 1952, **64**, 615.
  15. BALOZET (L.) et RECEVEUR (P.). — Culture sur embryon de poulet du virus de la péri-pneumonie des bovidés. *Expériences non publiées de l'Institut Pasteur de Tunis*, 1944-45 (communication personnelle).
  16. SHERIFF (D.) et PIERCY (S.E.). — Further observations on an avianised bovine pleuropneumonia vaccine in Kenya. *Proceed. 15th Int. Vet. Cong. Stockholm 1953*, **1**, 333, et *Discussions*, **2**, 236.
  17. HYSLOP (N. St. G.). — Duration of immunity in cattle vaccinated with egg adapted contagious bovine pleuropneumonia vaccine. *Brit. Vet. J.*, 1956, **112**, 519.
  18. HYSLOP (N. St. G.). — The viability at low temperatures of a dried egg-adapted strain of *Asterococcus mycoides*. *Vet. Rec.*, 1955, **67**, 411.
  19. PIERCY (S.E.) et KNIGHT (G.J.). — Avianized contagious pleuropneumonia vaccine E.A.V.R.O. *Annual Report*, 1956-57, 33.
  20. PIERCY (S.E.) et KNIGHT (G.J.). — Studies with avianized strains of the organism of contagious bovine pleuropneumonia. V. Experiments with avianised vaccines at various levels of attenuation. *Brit. Vet. J.*, 1958, **114**, 245.
  21. PIERCY (S.E.) et KNIGHT (G.J.). — Studies with avianised strains of the organism of contagious bovine pleuropneumonia. A further examination of growth and modification in embryonated eggs. *Vet. Rec.*, 1956, **68**, 367.
  22. PIERCY (S.E.) et KNIGHT (G.S.). — The preparation, titration and challenge of avianised bovine pleuropneumonia vaccine. *Bull. epiz. Dis. Africa (I.B.E.D.)*, 1957, **5**, 161.
  23. Rapport annuel du Laboratoire de Farcha, année 1956.
  24. MANSO RIBEIRO (J.). — Le vaccin de la péri-pneumonie contagieuse des bovidés à partir de l'embryon de poulet. *Bull. Off. intern. Epiz.*, 1956, **46**, 428.
  25. CHUTE (H.L.) et COLE (C.R.). — Lesions in chicken embryos produced by P.P.L.O. from C.R.D. *Am. J. Vet. Res.*, 1954, **15**, 108.
  26. NUNES PETISCA. — Valeur des foyers d'infiltration périvasculaire dans le diagnostic de la péri-pneumonie. *Bol. Pecuário*, 1954, **22**, 3.
  27. PROVOST (A.) et QUEVAL (R.). — Recherches immunologiques sur la péri-pneumonie. I. la réaction d'agglutination. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1957, **9**, 357.
  28. FRY (R.M.). — in *Freezing and Drying*, p. 107. The Institute of Biology, Tavistock square. London 1951.
  29. BOULEY (H.) et MAGENDIE. — Rapport général des travaux de la commission instituée pour l'étude de la péri-pneumonie épi-zootique du gros bétail. *Rec. Méd. vét.*, 1954, **30**, 161.
  30. ORUE (J.). — in *Rapport annuel du Laboratoire fédéral de l'Elevage « Georges Curasson »*, Dakar, 1955, p. 81.
  31. DELAFORGE. — Expériences sur la transmission de la péri-pneumonie. *Rec. Méd. vét.*, 1885, **61**, 214.
  32. CAMPBELL (A.D.) et TURNER (A.W.). — Studies on contagious pleuropneumonia of cattle. IV. An improved complement fixation test. *Aust. Vet. J.*, 1953, **29**, 154.

33. BASSET (J.). — Vaccinations obligatoires collectives et accidents de vaccination. *Rev. Méd. vét.*, 1951, 102, 613.
34. CONRAD (R.D.). — Lyophilization of avian P.P.L.O. *Avian Dis.*, 1958, 2, 132.
35. MARTIN MENDES (A.). — *Sudsidio para o estudo da peripneumonia contagiosa dos bovinos em Angola.* Ministério do Ultramar. Lisboa 1958.
36. JOUBERT (L.), FLORIO (R.), COTTEREAU (Ph.), OUDAR (J.) et VALENTIN (L.). — Accidents allergiques chez le poulain, le veau et le porcelet dus aux autovaccins d'exploitation. *Rev. Méd. vét.*, 1958, 109, 445.
37. RAETTIG (H.). — Provokation einer Infektion durch Schutzimpfung. *Zbl. Bakt. I (org.)*, 1959, 174, 1<sup>re</sup>2.
38. LOPEZ Y LOPEZ. — Agalaxie contagieuse. *Bull. Acad. Vét.*, 1952, 25, 23.
39. NOCARD (Ed.) et LECLAINCHE (E.). — *Les maladies microbiennes des animaux.* 3<sup>e</sup> édition. Masson et Cie. Paris 1903.
40. VILLEMOT (J.M.) et PROVOST (A.). — Recherches immunologiques sur la péripneumonie. VI. Bases d'une classification sérologique des P.P.L.O. *Revue Elev. Méd. vét. pays trop.*, 1959, 12, 369.
41. Cité par G. CURASSON. — in *Traité de pathologie exotique vétérinaire et comparée*, P. 290, tome II, 2<sup>e</sup> édition, 1942, Vigot Fr. Edit. Paris.
42. JOUBERT (L.). — Données récentes sur le rouget du porc. *Rev. Méd. vét.* 1952, 103, 588.

## SUMMARY

**Immunological research on pleuropneumonia. VII. Immunisation with a live avianised vaccins inoculated into the muzzle.**

After reviewing and analysing the different living vaccines used against contagious bovine pleuropneumonia, the authors give an account of the studies and observations they have made on the avianised T<sub>3</sub> strain. They show its certain immunising value, and its total inoccuity when inoculated in the muzzle, by an original new technique, as described in the article. At the point of inoculation, characteristic anatomo-histological reactions occur accompanied by a plasmocytosis and a lymphocytosis. These reactions accompanied only by benign general inapparent reaction, and are the basis of the setting up of immunity.

The vaccination with the avianised T<sub>3</sub> strain, has been done on a large scale since 1957 in Central Africa, and the results permit the conclusion that it is the only method of value for these countries. The immunity is established in a few days and persists for at least 8 months. The present knowledge, based on several experiments makes it advisable to revaccinate annually. The new method of administration through the muzzle offers new hope in the control of the disease.

## RESUMEN

**Investigaciones inmunológicas sobre la perineumonía. VII. Inmunización por medio de una cepa avianizada de *M. Mycoides* inoculada por la vía del hocico.**

Después de haber pasado revista y analizado las diferentes vacunas vivas empleadas en la lucha contra la peripneumonía, los autores citan los estudios y observaciones que ellos han realizado con la cepa avianizada T<sub>3</sub> y comentan su técnica de producción. Demuestran que su valor inmu-



nizante es cierto y que su inocuidad es total si se cuida de inocularla en el hocico, siguiendo una técnica original cuyos detalles son completamente descritos en el texto. En el lugar de inoculación se producen reacciones anatomohistológicas características, acompañadas de plasmocitosis y de linfocitosis. Estas reacciones, que no son seguidas más que de reacciones generales benignas pasan desapercibidas, y son la base de la instalación de la inmunidad.

La vacunación con la cepa avianizada T<sub>8</sub> ha sido practicada de modo intensivo a partir de 1957 en el África Central, y los resultados permiten concluir que se trata del único método de vacunación actualmente admisible para estos países, pues une la inmunización de los animales no contaminados al « stamping-out » de los portadores. La inmunidad se establece después de algunos días y persiste durante 8 meses por lo menos. Según los actuales conocimientos, basados en múltiples experiencias, es aconsejable revacunar todos los años. La nueva vía de introducción por el hocico aporta las mayores esperanzas en la lucha contra la infección.